

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1925

THESE **330**

pour le

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(MENTION MEDECINE)

PAR

Tchilinguirian Vahram - Achod

Né à Constantinople le 29 Mars 1899

Les Sels Biliaires et leurs Réactions

présidée par M. le Professeur H. ROGER

Librairie Médicale et Scientifique
Marcel VIGNE, éditeur
11 et 13, Rue de l'Ecole-de-Médecine
PARIS (VI°)

THÈSE
POUR LE
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(MENTION MEDECINE)

Année 1925

THESE

N°

pour le

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(MENTION MEDECINE)

PAR

Tchilinguirian Vahram - Achod

Né à Constantinople le 29 Mars 1899

Les Sels Biliaires et leurs Réactions

présidée par M. le Professeur H. ROGER

Librairie Médicale et Scientifique
Marcel VIGNE, éditeur
11 et 13, Rue de l'Ecole-de-Médecine
PARIS (VI)

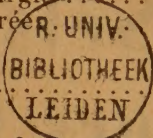
FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

LE DOYEN M. ROGER

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie	NICOLAS.
Anatomie médico-chirurgicale	CUNÉO.
Physiologie	Ch. RICHET.
Physique médicale	André BROCA.
Chimie organique et chimie générale	DESGREZ.
Bactériologie	BEZANÇON.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générale	Marcel LABBÉ.
Pathologie médicale	SICARD.
Pathologie chirurgicale	LECÈNE.
Anatomie pathologique	LETULLE.
Histologie	PRENANT.
Pharmacologie et matière médicale	RICHAUD.
Thérapeutique	CARNOT.
Hygiène	Léon BERNARD.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MÉNÉTRIÉR.
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER.
	GILBERT.
Clinique médicale	CHAUFFARD.
	ACHARD.
	WIDAL.
Hygiène et clinique de la première enfance	MARFAN.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JEANSELME.
Clinique des maladies du système nerveux	GULLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER.
	DELBET.
Clinique chirurgicale	HARTMANN.
	LEJARS.
Clinique ophtalmologique	GOSSET.
Clinique urologique	DE LAPERSONNE.
	LEGUEU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE.
	BRINDEAU.
Clinique gynécologique	JEANNIN.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	J.-L. FAURE.
Clinique thérapeutique médicale	BROCA Auguste.
Clinique oto-rhino-laryngologique	VAQUEZ.
Clinique thérapeutique chirurgicale	SEBILEAU.
Clinique propédeutique	DUVAL.
	SERGEANT.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

BRAMI Patholog. médicale.
 LGLAVE Patholog. chirurg.
 UBERTIN .. Patholog. médicale.
 ASSET Patholog. chirurg.
 AUDOIN Patholog. médicale.
 INET Physiologie.
 LANCHETIERN . Chimie biologique,
 RANCA Histologie.
 RULE Patholog. médicale.
 USQUET Pharmacologie et
 matières médi-
 cales.
 ADENAT Patholog. chirurg.
 HAMPY Histologie.
 HIRAY Patholog. médicale.
 LERC Patholog. médicale.
 EBRE Hygiène.
 de JONG Anatomie pathol.
 UVOIR Médecine légale.
 CAILLE Ostétrique.
 IESSINGER .. Patholog. médicale.
 OIX Patholog. médicale.
 ARNIER Patholog. expérim.
 ARVIER Patholog. médicale.
 IEITZ-BOYER. Urologie.
 IOVELACQUE. Anatomie.
 OYEUX Parasitologie.

MM.

LABBE (Henri). Chimie biologique,
 LARDENNOIS Patholog. chirurg.
 LE LORIER .. Ostétrique.
 LEMAITRE ... Oto-rhino-laryng.
 LEMIERRE ... Patholog. médicale.
 LEVY-SOLAL . Ostétrique.
 LHERMITTE . Patholog. mentale.
 LIAN Patholog. médicale.
 MATHIEU ... Patholog. chirurg.
 METZGER ... Ostétrique.
 MOCQUOT ... Patholog. chirurg.
 MONDOR Patholog. chirurg.
 MOURE Patholog. chirurg.
 MULON Histologie.
 PHILIBERT .. Bactériologie.
 RIBIERRE ... Patholog. médicale.
 ROUVIERE ... Physiologie.
 RICHT Fils .. Anatomie.
 STROHL
 TANON Patholog. médicale.
 Pharmacologie et
 matières médi-
 cales.
 TIFFENEAU .. Ostétrique.
 VAUDESCAL . Ostétrique.
 VERNE Histologie.
 VILLARET ... Patholog. médicale.
 WELTER Ophtalmologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.

AMUS Physiologie.
 OUGEROT . Patholog. médicale.
 UENIOT Ostétrique.

MM.

RETTERER .. Histologie.
 ROUSSY
 Anatomie pathol.

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

IV. — AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE

à titre permanent

MM.	MM.
AUVRAY	Clinique chirurgicale.
CHEVASSU	Clinique chirurgicale.
LAIGNEL-LAVASTINE	Clinique médicale.
LEREBOULLET	Clinique médicale infantile.
LERI	Clinique médicale.
LÉPER	Clinique médicale.
OMBREDANNE	Clinique médicale infantile.
PROUST	Clinique chirurgicale.
RATHERY	Clinique médicale.
SCHWARTZ	Clinique chirurgicale.
TERRIEN	Clinique ophtalmologi

. — CHARGES DE COURS

MAUCLAIRE, agrégé	Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY ..	Stomatologie.
N... ..	Education physique.
LEDOUX EBARD	Radiologie clinique.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MA MERE

Amour, regrets et pieux souvenir.

AU MEILLEUR DES PERES

*Faible témoignage de ma très grande
reconnaissance.*

*Puisse mon amour et mon dévoue-
ment le soulager de ses peines.*

A MON FRERE

Très affectueusement.

Meis et Amici

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR G.-H. ROGER

*Professeur de Pathologie expérimentale et comparée
Doyen de la Faculté de Médecine de Paris
Membre de l'Académie
Commandeur de la Légion d'Honneur*

*Hommage de ma profonde reconnais-
sance, de mon respect et de mon
admiration.*

A MES JUGES

A MES MAITRES DE LA FACULTE
ET DES HOPITAUX DE PARIS

AVANT-PROPOS

LA BILE

LES ACIDES ET LES SELS BILIAIRES

Chimie.

Physiologie.

RECHERCHE DES SELS BILIAIRES

Procédés de séparation et de dosage.

Procédés physiques.

La réaction de Hay.

Procédés chimiques.

La réaction de Pettenkofer.

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE

AVANT-PROPOS

La recherche des acides biliaires acquiert une importance de plus en plus grande en biologie, et surtout en clinique depuis qu'on dissocie les ictères et les classe selon l'élément biliaire qui, par suite d'une rétention, passe dans les urines.

Ces acides, quoique très étudiés, sont fort mal connus. Que de lacunes, en effet, dans nos connaissances sur leur constitution, leurs origines, le ou les lieux de leur formation, les modalités de leur élimination, leurs transformations quantitatives et peut-être aussi qualitatives qu'ils présentent dans les différents états normaux ou pathologiques !

Mais aussi que de faits nouveaux et intéressants ne se seraient acquis à la clinique si les chercheurs disposaient d'une méthode fidèle, sensible et sûre pour décélérer la présence des acides biliaires et permettre leur dosage. Tous les auteurs reconnaissent en effet l'insuffisance des réactions de *Pettenkofer* et de *Hay*, les seuls méthodes qui servent encore à caractériser

les acides biliaires et leurs sels, et qui, bien qu'elles rendent de réels services en clinique, sont trop peu rigoureuses pour permettre des recherches de quelque précision. Cela est tellement vrai que tous ceux qui ont à utiliser ces réactions cherchent à les modifier, à les perfectionner. Aussi voit-on surgir de tous côtés des procédés nouveaux qui, bien que basés sur les mêmes principes que les réactions-types de *Pettenkofer* et de *Hay* sont destinés à apporter, dans l'esprit tout au moins de leur auteur, plus de sensibilité dans la recherche, une précision et une fidélité plus grande dans les résultats.

De ces méthodes, nous en avons rassemblé le plus grand nombre qu'il nous fût possible ; nous en avons fait une étude comparative, cherché à mettre en relief les avantages qu'elles présentent sur les procédés voisins, et déterminé enfin leur valeur pratique.

Ce sont les résultats de cette étude qui feront le sujet de cette thèse.

Nous ne pouvons taire ici, nos sentiments respectueux de reconnaissance envers M. le professeur *H. Roger*, qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire et nous guider de ses précieux conseils.

Nous remercions également MM. les professeurs *M. Garnier* et *L. Binet* pour la bienveillance avec laquelle ils nous ont toujours reçu chaque fois que nous nous sommes adressés à eux.

LA BILE

La bile qui s'écoule des canaux hépatiques n'a pas la même composition que celle contenue dans la vésicule biliaire, car là, elle se concentre et se charge en mucine. (Résidu fixe : 25 0/00 dans la bile des can. hép., 170 0/00 dans celle de la vésicule).

La densité de la bile varie de 1014 à 1035.

Chez l'homme, la bile des canaux hépatiques, verdâtre ou jaune orangée (celle des herbivores est verte), est claire et fluide. Dans la vésicule, elle s'épaissit, prend une coloration plus sombre et devient visqueuse et filante.

Alcaline chez l'homme et les herbivores, la bile est légèrement acide chez les carnivores.

En dehors des acides biliaires qui représentent une quantité de 12 à 20 gr. par litre, on trouve dans la bile (humaine) des pigments (env. 40 0/00), des acides gras (10 0/00), de la cholestérine (9 0/00), des lécithines (2,5 0/00), de la graisse (1,9 0/00), de la

mucine et des sels minéraux (5 0/00). On y trouve encore des gaz : oxygène (2-3 cm³ par litre), azote (4-6 cm³ p. l.) et gaz carbonique (50-150 cm³ p. l.).

La quantité de bile secrétée en 24 heures est d'environ 1 kg. chez l'homme (10 cc. par kg.). Elle est de 14-15 gr. par kg. d'animal chez le chien; 15-20 gr. chez le chat; 25 gr. chez le mouton; 130 gr. chez le lapin; 170 chez le cobaye et de 12 gr. chez l'oiseau.

La sécrétion biliaire est continue, mais elle s'active 2 heures après les repas, augmente durant 5-6 heures, puis elle diminue.

Sa quantité absolue augmente avec une nourriture mixte de viande, légume et pain. Elle diminue par le jeûne ou par un régime exclusivement animal ou gras.

La sécrétine, les acides biliaires, le contact des acides sur la muqueuse duodénale (voie réflexes), les boissons aqueuses, l'injection d'eau dans les veines l'usage de phosphates de soude et d'ammonium, le benzoate et le salicylate de soude, le podophyllin, l'ipéca, le colchique, l'aloès, la rhubarbe, le jalap, etc., augmentent également la sécrétion biliaire.

La concentration moléculaire de la bile varie au cours de la journée : Elle suit (pendant le jeûne) à peu près exactement les oscillations de la température du corps. En surchauffant l'animal, la pression osmotique de la bile augmente (BRUNACCI) pendant que celle du sang diminue (MONTUOSI). La conc.

mol. de la bile, la plus élevée au cours de la journée se trouve vers 18 heures ($\Delta = 0,56$), la plus faible à 2 heures du matin ($\Delta = 0,54$).

La bile de l'homme contient du glycocholate et du taurocholate de soude (12-20 gr. p. litre, dont $\frac{3}{4}$ de glycocholate pour $\frac{1}{4}$ de taurocholate).

La bile du chien ne contient que des taurocholates.

Celle du porc contient deux acides spéciaux : les ac. hyoglycholique et hyotaurocholique.

Chez les animaux marins les acides biliaires se trouvent sous forme de sels de potasse. La bile manque chez l'amphioxus et celle des invertébrés n'est pas une véritable bile. Voit n'a trouvé dans le foie de l'Unio aucune des substances essentielles de la bile ; c'est, croyons-nous, le cas unique de l'existence d'un foie sans production de bile.

En dehors des principes qui la constituent normalement, on peut trouver dans la bile beaucoup de substances qui y passent après injection ou ingestion. Citons : la quinine, l'ac. benzoïque, le calomel, le plomb, l'arsenic, le cuivre, l'antimoine, le mercure, l'iodure de potassium, l'essence de térébenthine, l'indigotate de soude, etc. Les biles des diabétiques et des urémiques contiennent respectivement du glucose et de l'urée.

Bile cristallisée de Plättner. — C'est le produit cristallisé de l'extraction de tous les acides biliaires contenus dans une bile.

Pour le préparer on évapore à siccité (au B.-M.) la bile additionnée du quart de son poids de noir animal. Le résidu est traité par un volume d'alcool absolu bouillant double de celui de la bile employée. (Sur le conseil de M. le Professeur ROGER, nous préférons ne reprendre le résidu sec qu'avec de l'alcool absolu *froid*.) Après agitation et contact d'une heure et demie on filtre, on concentre au B.-M. et on ajoute au liquide ainsi obtenu trois fois son volume d'éther : les sels biliaires se déposent sous une forme résineuse qui, au bout de plusieurs jours, se transforme en groupes de belles aiguilles soyeuses.

LES ACIDES BILIAIRES

Acide Cholique ou Cholalique. — ($C^{24} H^{40} O_5$).

C'est le produit du dédoublement commun des ac. taurocholique et glycocholique les deux acides qui se trouvent dans la bile humaine. Nous étudions d'abord ce composé parce qu'il est le principe spécifique dont on peut faire dériver tous les autres acides biliaires.

Préparation. — On le prépare en faisant bouillir pendant 24 heures la bile cristallisée de PLATTNER avec de l'hydrate de baryte. Un excès d'ac. chlorhydrique précipite alors l'ac. cholalique à l'état impur. Pour le purifier on le lave à l'eau, le redissout dans la soude et le reprécipite par un acide minéral. Le dépôt formé est recouvert d'éther, et l'acide cristallise peu à peu. On l'égoutte, le redissout dans l'alcool chaud, et on ajoute de l'eau jusqu'à formation d'un trouble persistant ; par refroidissement, l'ac. cholalique cristallise en tétraèdres.

Les cristaux ainsi formés renferment 2,5 molécules d'H₂O de cristallisation. On a un alcoolate qui répond à la formule C²⁴ H⁴⁰ O⁵ + C² H⁶ O (MYLIUS)

Dissout dans l'ac. acétique bouillant, ce corps donne l'hydrate C²⁴ H⁴⁰ O⁵ H² O. Sa solution dans l'alcool absolu donne des croûtes cristallines d'ac. cholalique anhydre.

Cet acide fond à 195°. Son pouvoir rotatoire spécifique est $[\alpha]_D = + 35^\circ$, celui de l'acide à 2,5 mol d'H₂O étant $[\alpha]_D = + 50^\circ$.

Peu soluble dans l'eau, l'ac. cholalique se dissout facilement dans l'alcool et même dans l'éther. Le thymol et le phénol augmentent sa solubilité.

L'ac. cholalique abaisse considérablement la tension superficielle des liquides. Cette propriété se retrouve d'ailleurs dans tous les dérivés de cet acide.

L'ac. cholalique est monobasique et biatomique. On connaît le cholalate d'éthyle (C²⁴ H³⁹ (C² H⁵) O⁵). Le cholalate de baryum est sol. dans l'eau, celui de calcium l'est beaucoup moins ; on peut le dissoudre dans l'alcool bouillant. Le sel d'amomnium chauffé à 100° donne la cholalamide C²⁴ H³⁹ (NH₂) O⁴. Avec les alcalis concentrés, et à chaud, l'acide cholalique donne des hydrocarbures huileux présentant la réaction de PETTENKOFER autant que l'acide lui-

même. Il se fait en même temps un mélange de palmitates, acétates et formiates alcalins.

Traité par l'ac. nitrique chaud on obtient des lamelles étroites de la formule $C^{10} H^{16} O^4$. C'est l'ac-choléocamphorique que certains auteurs considèrent comme un isomère de l'ac. camphorique (LATSCHINOFF). Il est bibasique comme celui-ci et dextrogyre.

Oxydé par l'ac. sulfurique et le bichromate de potasse, l'ac. cholalique donnerait naissance aux trois acides : cholanique ($C^{20} H^{28} O^6$), pyrocholestérique ($C^{11} H^{16} O^7$) et cholestérique ($C^{12} H^{16} O^7$). (TAPPEINER). Il ne faut pas confondre ce dernier avec l'ac. cholestérique ($C^{26} H^{42} O^4$), produit d'oxydation de la cholestérine.

Enfin l'oxydation ménagée de l'ac. cholalique donnerait l'ac. déhydrocholalique ($C^{24} H^{34} O^5$) qui fournit par oxydation l'ac. bilianique ($C^{24} H^{34} O^8$) auquel MYLIUS donne la constitution : $C^{21} H^{31} O^2$ (Co^2H)³. (Bull. Soc. Chim. XLVI 818 et 874 ; XLIX 60 et 834).

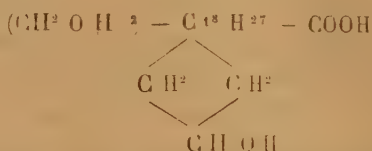
En oxydant l'ac. cholalique par l'ac. nitrique HAMMARSTEN a obtenu l'ac. déhydrocholique qui re-

pond à la constitution $C^{21} H^{31} O$		COOH
		COH
		COH

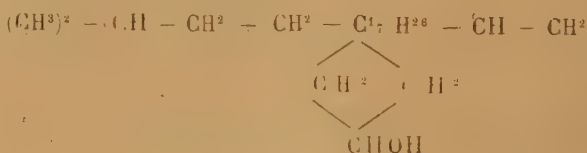
Sous l'action des bactéries de la putréfaction, l'ac.

cholalique se transforme en acide désoxycholique ($C^{24} H^{40} O^4$).

La constitution de l'acide cholalique n'est pas encore complètement connue. Des nombreuses études faites par MYLIUS, LATSCHINOFF, SCHOTTEN, WIELAND et WEILL, et par beaucoup d'autres on peut conclure que cet acide possède, en plus de sa fonction acide, trois fonctions alcool dont deux primaires et une secondaire. Ainsi sa formule développée serait la suivante :



constitution qu'il est intéressant de mettre en regard de celle de la cholestérine :



ACIDE TAUROCHOLIQUE (1)



Cet acide se trouve à l'état de sel de soude dans un grand nombre de biles. C'est le seul acide biliaire de la bile du chien. Il accompagne l'ac. glycocholique dans celle du bœuf et de l'homme.

Préparation. — La bile cristallisée de PLATTNER, préparée avec de la bile de chien ne contient que des cristaux de taurocholates qu'on purifie en les dissolvant dans l'eau et en les précipitant par l'acétate de plomb ammoniacal. Le précipité délayé dans l'alcool est décomposé par l'H²S qui met l'acide en liberté. Il ne reste plus qu'à évaporer la liqueur à siccité ou mieux, la concentrer et l'étendre d'éther : l'acide cristallise bientôt.

Pour extraire l'ac. taurocholique de la bile de bœuf ou de la bile humaine, il faudrait le séparer de l'ac. glycocholique qui l'accompagne. Pour ce faire, on met à profit les propriétés suivantes :

(1) *Strecker* l'avait d'abord nommé : *acide choléique*. Mais après qu'on eût découvert qu'il se dédoublait en acide cholaïque et taurine, on le nomme *taurocholique*.

l'acétate neutre de plomb précipite les glycocholates qu'on peut éliminer par filtration. Il n'y a plus alors qu'à extraire les taurocholates qui eux, ne sont précipités que par le sous-acétate de plomb.

Technique de T'ellgström. — On précipite la bile avec l'acrtate neutre de plomb et on additionne le filtra de perchlorure de fer qui précipite l'ac. glychocolique. Le filtrat es débarrassé du fer par la soude; puis le nouveau filtra est acidifié par HCP et saturé par du chlorure de sodium. Le filtrat est séparé, agité avec de l'éther et l'ac. taurocholique cristallisé en longue aiguilles est recueilli.

L'ac. taurocholique est un acide fort, monobasique. Assez sol. dans l'eau (bien plus que l'ac. glychocolique) il se dissout en grande quantité dans l'alcool. Ses sels alcalins sont très solubles dans l'eau et l'alcool. Ils ont une saveur sucrée et amère. Les taurocholates sont précipités par le sous acétate de PB et son acétate ammoniacal. Ils ne précipitent pas par l'acétate neutre de Pb, ni le nitrate d'argent. Les taurocholates sont encore, de même que les glycocholates, précipités par l'ac. phosphotungstique en présence d'Hel, et par le sulfate d'ammoniaque.

Le taurocholate de soude tiré du bœuf est dextrogyre : $[\alpha]_D = + 24^{\circ}5$; tandis que celui du chien est lévogyre $[\alpha]_D = - 25^{\circ}$. Il semble qu'il y ait là un

cas d'isomérisie analogue à celui des acides tartriques droit et gauche.

L'ac. taurocholique coagule l'albumine. Il précipite les syntonines et les propeptones. Les solutions d'ac. taurocholique émulsionnent avec les pétones mais ne les précipitent pas. (A. GAUTHIER).

C'est un antiseptique puissant (les taurocholates alcalins ne le sont que faiblement) doué également d'un pouvoir toxique considérable. Il diminue la quantité d'hémoglobine et le nombre de globules rouges (Sorrentino). Il dissout les globules du pus et les cellules épithéliales et musculaires.

L'ac. taurocholique (et ses sels) agit sur la tension sanguine, qu'il abaisse, et sur le cœur qu'il ralentit. Enfin il arrête l'action du ferment pepsique, peut-être en l'insolubilisant.

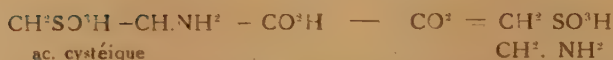
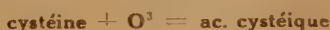
Hydrolysé par les alcalis et les acides étendus, l'ac. taurocholique se dédouble facilement en acide cholalique et taurine :



Ce dédoublement s'accomplit même avec de l'eau pure par simple évaporation de la bile ou lorsque celle-ci se putréfie, (A. GAUTHIER.)

La taurine est cet acide thioaminé qui provient

de la desassimilation des albuminoïdes, par l'intermédiaire de la cystine :



La bile ne contenant pas de substances soufrées autre que la taurine il s'ensuit qu'on pourra calculer le poids de l'ac. taurocholique en dosant le soufre biliaire. Le soufre se dose par oxydation totale de la bile sous forme de SO⁴ H². (On calcule : 1 gr. de SO⁴ H² = 8 gr. d'ac. taurocholique).

ACIDE GLYCOCHOLIQUE (C²⁶ H⁴³ N O⁶)

L'acide glycocholique existe principalement dans la bile des herbivores et dans leurs excréments. Il peut quelquefois manquer dans la bile des bœufs de certaines régions. La bile humaine en contient presque le triple que d'acide taurocholique.

Préparation. — Une solution de bile cristallisée tirée de la bile de bœuf est traitée par l'acétate de Pb neutre qui précipite le glycocholate plombique et que l'on décompose par l'H² S au sein de l'alcool chaud.

Procédé de Hüfner. — Dans une éprouvette étroite on place la bile que l'on recouvre de quelques centimètres cubes d'éther ou de benzène et l'on ajoute le vingtième de son volume de HCl fumant. Il se fait un trouble, puis des cristaux se déposent. On rejette l'éther. On agite fortement la masse avec de l'eau et on filtre. On lave avec de l'eau froide jusqu'à ce que le filtrat passe incolore. On fait enfin recristalliser l'acide glycocholique en le dissolvant dans l'eau bouillante et en le laissant déposer par refroidissement.

Procédé de Bleibtreu. — Précipiter la bile fraîche de boeuf à l'aide d'une solution d'acétate d'Urane ; filtrer, précipiter l'acide glycocholique par le perchlorure de fer. Dissoudre le précipité dans l'eau ammoniacale, neutraliser par l'H Cl et ajouter de l'éther : l'acide cristallise sous forme de longues aiguilles soyeuses.

Enfin, en 1909, M. PIETTRE a donné un nouveau procédé de séparation des acides biliaires. (C. R., Académie des Sciences, Paris. CXLVIII, 372.)

L'eau de paryte, saturée à froid, donne, avec le glycocholate de soude, un abondant précipité floconneux, blanc, peu soluble à froid, très soluble à chaud. (L'acide taurocholique ne précipite pas dans ces conditions.) Cette réaction permet d'obtenir l'acide glycocholique sous forme d'un sel blanc, cristallisé, contenant 14 0/0 de Baryum.

L'acide glycocholique cristallisé fond à 132-134°. Il est peu soluble dans l'eau (sol. dans 330 p. d'eau à 20°). La présence d'une petite quantité d'acide taurocholique augmente cette solubilité. Il est assez soluble dans l'eau chaude.

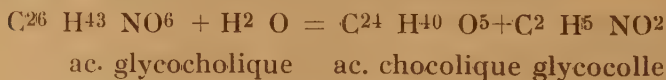
Insoluble dans le chloroforme et le benzène, faiblement soluble dans l'éther, cet acide se dissout facilement dans l'alcool.

La solution alcoolique de l'acide glycocholique libre a un pouvoir rotatoire dextrogyre de $[\alpha]_D^{20} = + 29^{\circ}0$. Celui de son sel de soude, également dextrogyre, est de $[\alpha]_D^{20} = + 27^{\circ}5$. (HOPPE-SEYLER, LXXXIX, 257.)

Les glycocholates alcalins sont solubles dans l'eau et dans l'alcool (excepté les sels de Pb, Ag et de Ba).

Ils ont une saveur douce-amère. On peut les pppter par l'acide phosphotungstique en présence d'Hel, et par le sulfate d'ammoniaque (MEILLÈRE).

L'acide glycocholique est monobasique. Il se double à chaud, comme l'acide taurocholique, sous l'action des agents hydrolisants, en donnant de l'acide cholique et du glyocolle (STRECKER).



Le glyocolle $\text{NH}^2 \text{CH}_2\text{-CO}^2\text{H}$ ou ac. amino-acétique est un composé qui se rouve dans la molécule de presque toutes les substances albuminoïdes sous

de multiples formes de combinaisons. On ne le rencontre à l'état libre qu'en très faibles proportions dans l'économie ou dans les excrétions.

L'acide sulfurique concentré dissout l'acide glycocholique. En chauffant, on obtient, sous forme de gouttelettes oléagineuses, un anhydride de l'acide glycocholique, l'acide cholonique ($C^{26} H^{41} NO^5$).

PHYSIOLOGIE DES ACIDES BILIAIRES

...Origine, lieu de formation et destinée des acides biliaires. — Nous avons déjà rappelé l'origine protéïque de la taurine et du glycocole. Leur histoire est d'ailleurs bien connue. Il nous reste à étudier l'origine de l'acide cholalique.

Actuellement, on a des raisons sérieuses pour penser que cet acide dérive de la cholestérine. Mais, avant de donner quelques faits à l'appui de cette thèse, avouons tout de suite que nous ne faisons là que reculer les difficultés. Car, en effet, on est encore à ignorer la matière première dont part l'organisme pour produire la cholestérine.

MM. A. CHAUFFARD, G. LAROCHE et A. GRIGAUT ont montré que la cholestérine d'origine endogène (c'est à-dire celle qui n'est pas introduite dans l'organisme par les substances alimentaires) provient des tissus, et que, probablement, les centres de sa production sont les capsules surrénales et les corps jaunes... et peut-être aussi la rate. (ABELOUS et SOLA.)

WINDAUS a établi que la cholestérine est l'alcool secondaire d'un complexe, le *cholestane*, formé par quatre noyaux de benzène hydrogéné, avec une chaîne latérale iso-propylique.

Nous avons déjà donné les formules développées, ou plutôt étalées, de l'acide cholalique et de la cholestérine. La différence (de C^{24} à C^{27}) des deux formules provient de ce que la cholestérine contient dans sa chaîne latérale un isopropyle en plus. Or, fait capital, on a pu passer de la cholestérine à l'acide cholalique. Ainsi, en amputant le cholestane (dérivé de la cholestérine) de sa chaîne isopropylique, H. WIELAND et F.-Z. WEIL, WINDAUS et NEUKIRCHEN ont obtenu l'acide cholanique ($C^{24} H^{40} O^2$), produit d'une réduction avancée de l'acide cholalique.

D'autre part, il résulte des observations de MM. A. CHAUFFARD et de ses élèves, de E. VON CZYLHARZ, A. FUCHS et O. VON FURTH, que la cholestérine s'élimine, par la bile, pour une grande partie sous forme d'acide cholalique. Que par suite d'une insuffisance hépatique la formation des acides biliaires soit arrêtée ou ralentie, on aura une hypercholestérinémie sanguine et biliaire, et, par suite, une cholélithiase. C'est la thèse de M. A. GRIGAUT appuyée de nombreuses constatations cliniques.

Enfin, si on fait passer par une circulation artificielle un mélange de glycocholle et de cholestérine

dans l'eau physiologique, à travers un foie de chien on peut constater la formation de glycocholates (CARRACIDO).

Tout ces faits confirment les relations étroites qui unissent la cholestérine à l'acide cholalique. Cette dernière expérience fait ressortir, en outre, le rôle catalytique joué par la cellule hépatique dans les transformations subies par la cholestérine.

C'est aussi au niveau du foie que se fait la synthèse des acides glycocholique et taurocholique, à partir de l'acide cholalique, le glycocolle ou la taurine. C'est là un fait qui peut être élégamment illustré par une expérience simple de WERTHEIMER. Cet auteur prend un chien et lui fait ingérer du glycocolle ; on voit alors du glycocholate apparaître dans la bile de cet animal, qui, normalement, ne contient que des taurocholates.

Certains auteurs, se basant sur le fait que l'acide cholalique et les albumines donnent la réaction de PETTENKOFER, ont pensé faire dériver l'acide cholique directement des substances protéïques.

D'autres ont voulu voir une parenté entre les acides et les pigments biliaires. Ils rappelaient en faveur de leur hypothèse les travaux de MICHAÏLOFF. Cet auteur aurait, en effet, obtenu, par l'action de l'acide $\text{SO}_4 \text{H}_2$ conc. sur l'acide glycocholique, en présence d'acide acétique, une substance colorante qui ne serait autre que la bilirubine. De l'urobiline

resterait en même temps dans la solution (Bull. Soc. chim. XLIII).

D'aucuns, enfin, prétendent que les acides biliaires sont préformés dans le sang (ou dans les tissus, comme cela a été démontré possible pour les pigments) et que le foie les laisse passer dans la bile, un peu comme le rein laisse passer l'urée dans les urines. Bien que la présence de ces acides dans le sang ne soit pas encore prouvée, cette hypothèse n'a-t-elle pas un gros argument en sa faveur depuis que MEILLÈRE a démontré que les urines normales contiennent de 0,02 à 0,05 gr. d'acide biliaires par litre. (0 gr. 008 d'après DRAGENDORFF.)

Nous avons noté ci-dessus toutes les opinions, aussi contradictoires fussent-elles, sans prendre parti, sans même chercher à les concilier entre elles (bien que cela fut possible pour certaines), afin de mieux montrer combien nos idées sont vagues sur ces questions, et combien notre ignorance s'étend sur des faits dont nous ne faisons qu'entrevoir l'existence. Et si quelques expériences nous limitent et précisent certains problèmes, rien à l'heure actuelle nous permet de les résoudre.

Voyons maintenant quelle est la destinée des acides biliaires une fois formés.

Normalement, les acides biliaires passent avec la bile dans le tube digestif. C'est leur seule voie d'élimination (la quantité trouvée dans les urines pou-

vant être négligée). Ils sont en grande partie absorbés par la muqueuse intestinale ; une très faible portion se retrouve dans les selles.

HOPPE-SEYLER, BIDDER et SCHMIDT, WERTHEIMER ont montré que le glycocolle et la taurine étaient absorbés au niveau de l'intestin grêle. L'acide cholalique, lui, ne serait absorbé que plus bas et dans la proportion de 7/8.

Le dédoublement des acides biliaires dans le tube digestif est dû à l'action des micro-organismes intestinaux. Chez le fœtus, dont l'intestin ne contient point de microbes, on retrouve les acides biliaires en nature dans le méconium.

Une fois absorbé, que devient l'acide cholalique ? Sous quel état passe-t-il dans le sang ? Il n'est pas, à l'heure actuelle, de réponses satisfaisantes à ces questions.

Rôle et action des acides biliaires sur l'organisme.

— Les acides biliaires ne jouent, à proprement parler, aucun rôle dans la digestion. Leur présence dans le tube digestif n'en est pas moins très importante.

Le suc pancréatique, médiocrement saponifiant (chez l'homme et le chien), acquiert un pouvoir jusqu'à environ 10 fois plus grand par addition de sels biliaires (O. VON FURTH et J. SCHULZ). On exprime ce fait en disant que les sels biliaires servent de co-diastase à la stéapsine déjà formée. Ils agis-

sent encore, quoique à un degré moindre, sur la trypsine et l'amylase pancréatique.

Les taurocholates (ou mieux l'acide taurocholique, dès qu'il est libéré) agissent sur les matières protéïques imparfaitement peptonisées, en les précipitant et en les rendant ainsi plus susceptibles à l'action du suc pancréatique. Ils précipitent également la pepsine et arrêtent ainsi son action. Ils entraveraient de même les effets de la ptyaline (A. GAUTHIER).

Les peptones ne sont ni altérées ni précipitées par les sels biliaires dont elles séparent toutefois les acides sous forme d'émulsion (MALY et SMICH).

L'acide taurocholique, par son action antiseptique s'oppose à la putréfaction des substances protéïques qu'il a déjà précipité sous forme de grumeaux. EMIECH a montré que 2 à 5 0/00 d'acide taurocholique empêchent la putréfaction d'une infusion de chair ou de pancréas et arrêtent les fermentations alcooliques et lactiques.

M. H. TRIBOULET, d'autre part, a fait remarquer que la fermentation des selles est maximum s'il y a suppression totale de bile, et qu'elle est réellement moindre s'il passe dans le tube digestif une certaine proportion de sels biliaires. Cette action antiseptique ne se manifeste d'ailleurs avec quelque intensité que sous certaines conditions, lorsque par exem-

ple, le taux de l'acide H Cl s'abaisse à 0,05 0/00 (E. GLEY et E. LAMBLING).

Rappelons de nouveau que le contact des S. B. sur la muqueuse duodénale active la sécrétion biliaire, propriété qui a même trouvé son application en thérapeutique.

Enfin citons encore le rôle régulateur de la pression osmotique des milieux organiques, joué par les sels biliaires, rôle qui ressort bien des nombreuses expériences de M. Brunacci.

Les sels biliaires agissent différemment, selon qu'ils sont introduits dans l'organisme par la voie digestive ou par la voie intra-veineuse. On peut faire ingérer à des chiens de 10 kgr., jusqu'à 200 centim. cubes de bile de bœuf par jour, sans observer de troubles autrement graves qu'une simple diarrhée (DASTRE).

Introduits au contraire dans le sang, les sels biliaires provoquent des accidents qui, s'ils ne sont pas souvent mortels (question de dose), sont du moins toujours très graves et reproduisent alors, à une plus grande échelle, le tableau clinique des ictères par rétention.

Ici, on pourrait se poser une question : Pourquoi, dans les ictères, n'assiste-t-on pas à des accidents aussi graves ? Pour expliquer ce fait qui, à première vue, apparaît comme paradoxal, on peut in-

voquer deux raisons : 1° Il n'y a pas, à vrai dire, de grosse accumulation de sels biliaires dans le sang. Car, comme il n'y a plus absorption de sels biliaires par la muqueuse intestinale, ainsi que cela se produit lorsque la bile s'écoule dans le tube digestif le foie en secrète de moins en moins. Il est prouvé que, dans les ictères, la production des acides biliaires est considérablement abaissée, ce qui est d'ailleurs corroboré par le fait que l'urine des ictériques, qui ne contient jamais de grosses quantités de sels biliaires au début (0 gr. 34 en 24 heures dans un cas de BISCHOFF, cité par LAMBLING), n'en contient plus au bout de quelques jours. 2° Le sérum sanguin supprime, ainsi que cela peut être mis en évidence *in vitro*, et le pouvoir hémolytique des sels biliaires et leur action toxique.

Dans les ictères, on a pu faire la part des troubles dûs aux acides biliaires et de ceux provoqués par les autres éléments de la bile, grâce aux cas de rétentions partielles. On sait que si la rétention est souvent complète (obstacle à l'écoulement de la bile), elle peut, plus souvent encore, ne porter que sur un des éléments constitutifs de la bile. On a, dans ce cas, des ictères dissociés, permettant d'étudier le rôle pathogène de chacun de ces éléments. Ces éléments peuvent, d'ailleurs, se retrouver dans

le sang et les urines (1). On a pu ainsi démontrer que le xanthélasma est dû à la rétention de la cholestérine (M. CHAUFFARD et ses élèves), et que c'est à la bilirubine (2) qu'ont doit l'hypothermie (BOUCHARD, CHARRIN et CARNOT) et la coloration spéciale des muqueuses et des téguments. Quant aux sels biliaires, ils sont responsables de toute une plétade de symptômes : respiration accélérée, ralentissement du cœur, prurit, amaigrissement, albuminurie, apathie, etc...

MM. D.-I. MACHT et O.-R. HYNDMAN ont fait sur des rats des expériences pour déterminer la part qui revient à chacun des acides dans l'action neuro-dépressive des sels biliaires. Avec une dose de 1 mgr. 5 d'acide cholique (sel de Na) pour 100 gr. de rat, ils ont obtenu des états de très grande dépression et de narcose; tandis qu'il fallût 5 mg. de taurine et 15 mgr. de glyocolle pour arriver à provoquer dans les mêmes conditions une très légère dépression. On voit donc que l'acide cholique est de beaucoup l'élément le plus toxique : environ 3,5 fois plus que la taurine ; ce dernier étant à son tour trois fois plus toxique que le glyocolle.

(1) Normalement, on trouve toujours une petite quantité de Bilirubine (Gilbert, Hersher et Posternak) et de cholestérine (Flint, A. Chauffard, Laroche et Grigant) dans le sang. Mais on ne sait pas encore s'il y a une cholalémie physiologique. Toutes les recherches effectuées dans cette direction sont, jusqu'à présent, restées négatives.

(2) Les pigments sont beaucoup plus toxiques que les sels (5-8 fois). Mais ceux-là se trouvant en quantité bien plus considérable que les pigments, leur action équivaut au moins celle de ces derniers (dans les rétentions complètes).

RECHERCHE DES ACIDES BILIAIRES

La recherche et le dosage des sels biliaires peut s'effectuer par trois groupes de procédés différents.

1° Procédés dans lesquels on utilise les propriétés physiques ou chimiques (dissolution, précipitation, etc., etc. des sels biliaires pour les séparer des substances avec lesquelles ils se trouvent mélangés, pour les isoler, les caractériser et enfin les doser.

2° Procédés physiques (de caractérisation).

3° Procédés chimiques (d'identification).

PROCEDES DE SEPARATION ET DE DOSAGE

Ce sont les procédés les plus précis et presque les seuls permettant le dosage des sels biliaires. Ce sont des procédés de laboratoire fort longs, et par conséquent inutilisables en clinique.

Exposons-les rapidement.

Procédé classique de Hüfner. — La bile est additionnée de son volume d'alcool à 85°. Le mucus, l'albumine, les cellules épithéliales, quelques sels minéraux se séparent. On filtre, on distille l'alcool dans le vide, on reprend le résidu par son volume d'éther et on ajoute à la liqueur, en H Cl, 5 0/0 du volume primitif de bile. L'acide glycocholique impure se précipite bientôt ; l'éther contient surtout les matières colorantes, la graisse et la cholestérine, Les cristaux d'acide glycocholique sont essorés à la trompe avec de l'eau glacée qui entraîne l'acide taurocholique ; on neutralise la liqueur avec de la soude, on évapore sur du noir au B. M. et l'on épuise le résidu par de l'alcool. Après avoir chassé ce dissolvant, on étend d'eau et l'on précipite l'acide

taurocholique par le sous-acébate de plomb. On décompose ce précipité en solution alcoolique par de l'H² S. On filtre à chaud, on évapore l'alcool et laisse cristalliser l'acide taurocholique.

C'est là un procédé de préparation des acides biliaires qui présente un double avantage : séparation des deux acides sous la forme cristallisée et précipitation suffisamment grande pour permettre leur dosage.

Procédé de Hoppe-Seyler. — La bile est desséchée à poids constant à 110°. On reprend le résidu avec de l'alcool absolu bouillant et on l'abandonne pendant 24 heures. Puis on filtre et on évapore à siccité à 110°. Le résidu est redissout dans l'alcool absolu, concentré au B. M. et, après refroidissement, additionné d'un grand excès d'éther : les sels biliaires cristallisent. On les sèche et on les pèse.

Procédé de A.-C. Croftan. — Coaguler l'albumine, évaporer le filtrat, le laver et le traiter par l'alcool. Le nouveau filtrat, dilué dans l'eau, est alors précipité par le sous-acétate de Pb ammoniacal. Le précipité est repris par l'alcool à chaud et enfin desséché à poids constant. On pèse.

Procédé de E. Stadelman. — Évaporer la bile à consistance de sirop, reprendre le résidu par l'alcool et laisser en contact au B. M. jusqu'à coagulation complète des albumines, — filtrer. Reprendre

par l'alcool à 96° bouillant et recommencer cette opération à trois reprises. Dissoudre le précipité final dans l'eau et dessécher à poids constant.

Dans ces quatre procédés, on a le poids des sels biliaires directement par pesées. Ce sont des procédés longs et fort délicats. Néanmoins, nous les préférons aux méthodes qui suivront à cause de leur plus grande précision et de leur simplicité relative.

On peut toujours remplacer les filtrations par la centrifugation, opération beaucoup plus rapide et tout aussi efficace que la filtration.

Procédé de Spiro. — On fond dans une capsule d'argent 50 centim. cubes de bile avec de la potasse et du nitrate de potassium. On transforme ainsi tout le soufre en $\text{SO}_4 \text{H}_2$. On dissout le résidu obtenu dans de l'eau saturée d' HCl . On précipite à chaud avec du chlorure de baryum et on filtre le sulfate de baryte ainsi formé sur un papier dont on connaît les cendres. On lave plusieurs fois et on dessèche à poids constant.

Une partie de ce précipité est exactement pesée et calcinée dans un tube de porcelaine ; après quoi, elle est pesée de nouveau. La différence donne le poids des impuretés. Du poids de sulfate de baryum ainsi déterminé, on calcule la quantité de soufre to-

tal de l'échantillon analysé, et du chiffre obtenu on déduit le poids de l'acide taurocholique.

Procédé de Bergman. — On précipite la bile avec plusieurs fois son volume d'alcool à 96°. On filtre et on lave 6 ou 8 fois à l'alcool. On évapore le filtrat et on dose le soufre.

Comme on le voit, dans ces deux méthodes, on dose les sels biliaires d'après le taux du soufre qu'ils contiennent. Ces méthodes ne donnent donc que la quantité de l'acide taurocholique, le soufre n'entrant dans la composition que de la taurine. Par conséquent, ces procédés ne peuvent être appliqués qu'au dosage de l'acide taurocholique, et ce, que lorsque l'on est sûr que cet acide n'est accompagné d'aucune autre substance soufrée.

Enfin signalons une dernière méthode basée sur le dosage du NH_2 dégagé par l'hydrolyse de la taurine. Comme les deux précédentes elle ne permet que le dosage de l'acide taurocholique. Il ne faudrait pas que l'échantillon examiné contienne d'autres acides aminés que l'acide amino-ethyl-sulfonique (taurine). Ce serait par exemple le cas pour la bile du chien. Si la bile contenait en même temps des glycocholates on les précipiterait au préalable et on les pèserait à part. Ce sont là des complica-

tions qui ne sont pas en faveur de la méthode. Aussi les auteurs ne l'ont donné que pour le dosage de la bile du chien. La voici :

Méthode de M.-G. Forster et C.-W. Hooper. — Cinq centim. cubes (exactement mesurés) de bile centrifugée sont précipités avec 40 centim. cubes d'alcool à 95° bouillant. Après refroidissement, on porte le volume à 50 centim. cubes avec de l'alcool à 95° et on filtre. De ce filtrat on prélève deux échantillons de 20 cc. qui sont placés dans des capsules de porcelaine et évaporés à sec.

Le premier échantillon est dissout dans 6 cc. de soude à 8 0/0 et mis à hydrolyser au B. M. Au bout de 5 heures, le volume du liquide est ramené à 10 cc. Deux cc. de cette solution permettront de doser le NH_2 dégagé après hydrolyse.

Le deuxième échantillon est dissout dans 10 centim. cubes d'eau ; 2 centim. cubes de cette solution serviront à déterminer le NH_2 avant hydrolyse. La différence des chiffres obtenus donnera la quantité de NH_2 dégagée de la décomposition de la taurine. Il est très facile alors de calculer en acide taurocholique.

PROCEDES PHYSIQUES

Procédés optiques

a) Polarimétrie. — (HOPPE-SEYLER).

Une solution contenant 0 gr. 2297 d'acide biliaire dans 20 cc. d'eau, et placée dans un tube long de 200 millimètres, donne pour la lumière rouge, une déviation du plan de polarisation de $1^{\circ}3$.

On calcule à partir de ces données, la quantité de sels biliaires contenus dans une urine, par dilution et comparaison.

Proc. : Une grande quantité d'urine bouillie avec un lait de chaux est ensuite filtrée et évaporée. On reprend le résidu sec avec un grand excès d'H Cl. On fait bouillir pendant environ 15 minutes et l'on évapore à sec. Laver à l'eau et reprendre par l'alcool. Décolorer l'extrait alcoolique au charbon animal. Evaporer. Faire la recherche polarimétrique sur le résidu ainsi obtenu.

b) Spectroscopie. — (proc. de DENIGÈS).

Vingt centim. cubes d'urines sont évaporés à siccité. On reprend le résidu avec 5 cc. d'alcool à chaud et l'on filtre. A 1 centim. cube de cette solution alcoolique on ajoute une goutte de sucre (sol. à 1 0/0) et un centim. cube d'acide sulfurique concentré, qu'on fait couler sur les parois de la capsule en agitant et sans refroidir. On obtient une coloration rouge (réaction de *Pettenkofer*) qui, diluée à l'acide acétique, donne au spectroscope trois bandes d'absorption : une dans le vert-bleu, une autre au début du rouge et une troisième entre les deux précédentes.

La spectroscopie est, à notre avis, le procédé de caractérisation le plus sûr et le plus fidèle, celui qu'on devrait employer toujours. Toutes les réactions colorées que nous donnons plus loin sont plus ou moins dérivées de la réaction de *Pettenkofer* et, par conséquent, ne sont pas plus spécifiques que cette dernière. Or, ils se distinguent totalement les unes des autres au point de vue spectroscopique. Ainsi les spectres de la réaction furfurolique de *Mylius*, de la réaction méthylfurfurolique de *Neuberg* et de la réaction oxy-méthylfurfurolique de *Pettenkofer*, par exemple, ne se ressemblent nullement. Donc, ces trois réactions qui, au point de

réactions distinctes, et leurs résultats se contrôleront les uns les autres.

Nous n'avons pas jugé nécessaire de donner le spectre de toutes les réactions que nous étudierons. On n'a qu'à répéter la même épreuve sur l'urine à examiner et une solution témoin de sels biliaires, et à comparer les spectres obtenus.

Procédés basés sur la Mesure de la tension superficielle

Nous avons vu, dans un chapitre précédent, que les sels biliaires avaient la propriété d'abaisser la tension superficielle des liquides. Les procédés qui vont suivre auront tous pour but la mesure de cette tension. Nous consacrons à la réaction de HAY un chapitre spécial dans lequel nous étudierons la valeur de cette méthode, la plus répandue et presque la seule utilisée en clinique.

Procédé du compte-goutte de Duclaux. — Il découle de la loi de TATE que le nombre de gouttes données par un volume déterminé de différents liquides, mesuré avec le même compte-goutte, est inversement proportionnel à la tension superficielle de ces liquides.

La tension superficielle de l'eau étant conventionnellement représentée par 1.000, on calcule la tension superficielle d'une urine, par exemple, grâce à la relation suivante : $T. S. = 1000 \times \frac{A}{N} \times D$; vue chimique ne se seraient comportées que comme une seule épreuve (elles donnent toutes les trois une coloration rouge avec les sels biliaires), serviront, au point de vue spectropcopique, comme trois dans laquelle A représente le nombre de gouttes d'eau distillée, N celui de l'urine et D la densité de ce dernier.

On se sert, pour cette mesure, du compte-goutte de Duclaux, qu'on peut d'ailleurs remplacer par tout autre compte-goutte donnant, entre deux traits, un volume de liquide rigoureusement jaugé.

Procédé de Otto Grünbaum. — A une pipette de 2 centim. cubes, on ajuste une aiguille de quartz (toute autre aiguille peut servir pourvu que ses surfaces externe et interne restent inaltérables et qu'elles puissent être rapidement nettoyées). On remplit la pipette, on laisse l'urine s'écouler librement et on compte le nombre de gouttes fournies par les deux centimètres cube de liquide.

On fait cette opération pour une urine normale, de densité connue et des échantillons de cette même urine dans lesquels on a ajouté des quantités croissantes et connues de sels biliaires. Puis, on dresse

la courbe des nombres de gouttes notées, en fonction de la teneur en sels biliaires des échantillons examinés.

Soit, par exemple :

(Urine, densité = 1010)

S. B. 0/0	Nombre de gouttes
0,000	123
0,001	125
0,004	132
0,008	140
0,01	144
0,02	154
0,04	166
0,08	180
0,10	196
0,30, etc.	203, etc.

Ces chiffres une fois établis, il suffit de compter avec la même pipette le nombre de gouttes données par l'urine à examiner (dont on a ramené la densité à 1010) pour avoir, par une simple consultation du tableau dressé, la teneur en sels biliaires de cette urine.

Il est inutile de donner ici tous les procédés em-

ployés en physique pour la mesure de la tension superficielle (montée capillaire, arrachement, résistance au déplacement, formation de bulles, etc...), procédés qui sont longuement décrits dans les ouvrages de physique et qui ne présentent aucun avantage à être introduits en clinique. Il serait d'ailleurs très facile de mesurer simplement et avec précision la tension superficielle d'un liquide si on était autorisé à conclure de l'exactitude des mesures faites à l'exactitude des doses de sels biliaries calculées. ¹

LA REACTION DE HAY (1)

Découverte et étudiée en 1882 par Mathieu HAY, professeur de médecine légale à l'Université d'Aberdeen, publiée en 1886 dans la deuxième édition anglaise de la Physiologie de LANDOIS, cette réaction fût introduite en France par M. FRENKEL (1900).

C'est une réaction très simple et très rapide : On projette à la surface de l'urine une petite quantité de fleur de soufre. Si l'urine contient des sels biliaires, le soufre gagne rapidement le fond du verre, alors que normalement il surnage la surface liquide. Cette chute est due à l'abaissement de la tension superficielle des urines, provoqué par la présence des sels biliaires.

La réaction de HAY a présenté une sensibilité différente entre les mains de différents auteurs. Citons quelques chiffres :

(1) C'est à tort que cette réaction fut longtemps appelée réaction de *Haycraft*.

Sensibilité : de 1/4.000° (Lyon-Caen).

1/10.000° (Letienne).

1/20-40.000° (Chauffard et Gou-
raud).

1/100.000° (Garban). (Réaction
observée à la chambre noire et
sous un éclairage intense.)

Cette réaction serait parfaite si elle était spécifique et si malheureusement un nombre multiple de circonstances ne venait fausser les résultats. Mais aussi, en l'absence de cette spécificité, la trop grande sensibilité d'une réaction ne constitue-t-elle pas plutôt un grave défaut ? Car, avec la sensibilité, c'est la susceptibilité aux facteurs qui influent si factueusement sur les résultats, qui augmente.

Mais quels sont ces facteurs et ne pourrait-on pas les éloigner ?

Nous allons justement étudier les causes d'erreurs qui peuvent intervenir dans la réaction de HAY, et nous indiquerons, toutes les fois qu'il sera possible, les conditions dans lesquelles il faut opérer pour éviter ces erreurs.

*a) Causes d'erreurs dues aux conditions physi-
ques.*

Il faut tout d'abord que les urines soient filtrées,

car les impuretés abaissent la tension superficielle.

Les urines fermentées donnent toujours une réaction négative, et cela indépendamment de leur réaction acide ou alcaline (MM. A. CHAUFFARD et F. GOURAUD). On devra donc ne pratiquer la réaction de HAY que sur des urines fraîches (1).

Il ne faudrait pas non plus opérer sur des urines trop fraîchement émises, car il a été remarqué que la tension superficielle des urines chaudes est toujours plus basse (MM. GIANOZZA et GRUNY). Il existe en effet une certaine relation entre la tension superficielle des urines et leur température. Il est correct de n'essayer une urine qu'un quart d'heure après son émission.

On peut enfin observer une légère chute de la fleur de soufre tout près des parois du verre. Aussi recommande-t-on d'effectuer la réaction dans des verres à pied aussi larges que possible, de façon à pouvoir opérer sur une grande surface liquide et suffisamment loin des parois.

(1) Pour empêcher la fermentation, on pourrait employer une solution antiseptique n'agissant pas sur la T. S. comme par exemple 5-6 centim. cubes d'une solution de cyanure de mercure (au 1/50^e). Le thymol et le naptol font baisser la tension.

b) Causes d'erreurs tenant à la constitution chimique des urines.

Celles-là sont les plus graves, car elles sont beaucoup plus difficiles, sinon impossibles à écarter. Encore faut-il qu'on soit prévenu de leur présence.

La tension superficielle de l'eau distillée étant représentée par 1.000, celle des urines le serait par 900 chez l'homme (J. TROISIER), 950 chez le chien (LYON-CAEN). Le jeûne fait encore baisser cette tension (sans qu'il y ait de sels biliaires dans les urines ; bien mieux, le jeûne réduit même la quantité des sels biliaires de la bile).

Beaucoup de substances agissent dans un sens ou dans l'autre sur la tension superficielle des liquides. Nous donnons, ci-contre, une liste de ces substances.

Substances qui donnent une R. DE HAY négative

Acides : Acétopierique, arsénieux, chlorhydrique, hippurique, nitrique (dilué), oxalique, phosphorique, phospho-tungstique, sulfurique, sulfanilique, tartrique.

Bases : Soude (pas la potasse), ammoniacque.

Sels : Chlorure de sodium, iodures, bromures, carbonates, sulfates : de sodium, magnésie, de

cuivre. Hyposulfite de soude, chromate et permanganate de potasse, perchlorure de fer, ferrocyanure de potassium, eau alunée, sels de cuivre, sublimé (précipité sans alcool).

Substances organiques : Sulphophénate, salicylate, benzoate de soude, chloral hydraté, antipyrine, substances extractives, sucre de canne, glucose, lactose, galactose, urée, urates, créatine, créatinine, sarcine, cholestérine, pigments biliaires, mucine, gomme, albumine, urines normales, sérum sanguin.

La tension superficielle limite, au-dessous de laquelle le soufre gagne le fond du verre, est de 50 dynes par centim. carrés (FRENKEL et CLUZET). Les substances qui abaissent la tension superficielle au-dessous de ce chiffre donnent donc une réaction

Substances qui donnent une R. DE HAY positive

Acides : Acétique (même très dilué), nitrique (concentré), trichloracétique, ac. gras, ac. parabutyrrique, parabanique, nucléinique.

Bases : Potasse (concentrée), alcool éthylique, acétylique, amylique, etc. Phénol et eau phéniquée.

Ethers : Acétate d'Éthyl, savons, huile d'olive.

Substances organiques : Acétone, aldéhyde formique, benzène, sulfure de carbone, toluol, xylol, pétrole, ess. de térébenthine, eau d'aniline, éther, chloroforme, santal, copahu, cubèbe, sels biliaires, peptone, la plupart des alcaloïdes, polypeptides, leucine, nucléine, hémoglobine, alloxane.

de HAY *positive*. Ces substances sont assez nombreuses, et il en est malheureusement un certain nombre qui peuvent se retrouver assez fréquemment dans les urines et en l'absence de tout acide biliaire.

Ainsi, les urines de ceux qui prennent en grande quantité du santal, du cubèbe, du copahu ou de l'essence de térébenthine donnent une réaction positive (LANGEVIN et BRULÉ). On aura de même un HAY *+* avec les urines de personnes anesthésiées au chloroforme ou à l'éther, ou soumises à un traitement iodure, salicylé ou chloral. Mais dans certains de ces cas, on peut penser que des sels biliaires existent en même temps dans les urines (BRULÉ et GABBAN), car, en effet, le salicylate de soude, l'iodure de potasse, le chloral ne font pas tomber le soufre lorsqu'ils sont ajoutés aux urines *in vitro*.

Les peptones surtout ont un pouvoir dénivellant considérable (870-740, selon les préparations). Il en est de même des polypeptides (870), de la leucine (876 en sol. à 1 0/0), des acides parabutyrique, parabanique, l'alloxane (818-790), la nucléïne, l'acide nucléinique, l'hémoglobine (hémogl. cristallisée = 839).

Les pigments biliaires s'opposent à l'hémoglobine, ils n'abaissent pas la tension superficielle. Ils sont indifférents comme la créatine et la sarcine. Quant aux bases puriques et pyrimidiques, elles relèvent la tension (J. TROISIER).

Or, il n'est pas rare de trouver des peptones dans les urines. Beaucoup de cas de peptonurie ont été signalés, notamment à la période de convalescence de pneumonies graves.

Ainsi on peut souvent avoir des réactions de HAY + dues simplement au passage dans les urines de substances dénivellantes (« capillaractiv » de MUSCULUS) introduites dans l'économie dans un but thérapeutique (balsamiques, alcaloïdes, etc...) ou soit encore de substances provenant d'une desassimilation incomplète ou d'une déviation pathologique du métabolisme des matériaux apportés par l'alimentation (alcools, acétone, peptones, ac. gras, etc...).

Des expériences ont été faites (FRENKEL et CLUZET) pour voir comment se comporte la tension

superficielle vis-à-vis des variations de la concentration moléculaire. Nous résumons ici les conclusions tirées de ces travaux :

1° Les urines à concentration moléculaire (Δ) faible ont une tension élevée.

2° Les urines à concentration en molécules élaborées (δ) faibles ont une tension superficielle encore plus élevée.

3° La diurèse moléculaire totale $\frac{\Delta v}{P}$ (activité rénale en bloc), et la diurèse en molécules élaborées $\frac{\delta v}{P}$, n'ont pas une grande influence sur la tension superficielle.

La tension superficielle est élevée dans la polyurie, elle est faible dans l'oligurie (car la tension superficielle de l'urine est plus faible que celle de l'eau). On peut donc dire que la tension superficielle d'une urine sera d'autant plus faible que sa densité sera forte.

Mais, disent les auteurs de cette étude, ce sont là des facteurs de second ordre, et ils concluent par la formule suivante : Ce qui influe sur la tension superficielle des urines n'est pas tant le nombre et la concentration des molécules *que leur nature*. Le chlorure de sodium élève la tension superficielle de 1-3 dynes. Certaines substances organiques peuvent l'abaisser de 2-18 dynes !

Il est encore un fait assez curieux : Si à des urines normales on ajoute un sel minéral, la tension superficielle augmente ; celle-ci diminue, au contraire, si on opère sur des urines ictériques.

Tous les sels n'ont pas la même activité à ce point de vue. Les chlorures sont les plus actifs. Les sels de soude le sont plus que ceux de potasse. Aussi le chlorure de sodium est, de tous les sels (des urines), celui qui possède ce pouvoir au degré supérieur.

Si on ajoute des doses croissantes de Nacl à une solution de glycocholate de soude, on en abaisse la tension superficielle et ce, jusqu'à une limite (conc. de Nacl = 8 0/00), puis, la tension superficielle se relève suivant la densité du liquide (LYON-CAEN), MM. BILLARD et DIEULAFÉ, qui sont les auteurs de ces recherches, font remarquer en passant, que cette limite est celle de la valeur isotonique du chlorure de sodium (8 0/00). C'est également celle de la tension la plus basse des liquides de l'organisme, comme celle du sérum. C'est elle qui permettrait peut-être (THEORIE DE TRAUBE) aux échanges cellulaires de se faire.

Ainsi donc, nous avons vu la tension superficielle baisser quand on ajoute du Nacl à une solution de S. B., jusqu'à une limite. Cette tension reste pratiquement la même pour les concentrations en Nacl

comprises entre 8 et 15 0/00 et, c'est à partir de ce dernier chiffre qu'elle remonte proportionnellement à la densité du liquide. (La tension superficielle augmente proportionnellement au nombre de molécules dissoutes. — SENTIS).

Il est heureux que ce palier de la courbe de la tension superficielle corresponde à des conc. en Nacl, comprises entre ces valeurs, car 8 et 15 sont également les nombres limites du taux de chlorure de sodium, dans les urines. Il s'ensuit que ce sel n'influencera pas de beaucoup les résultats de la R. DE HAY.

On pourrait, il est vrai, envisager des cas où la cause d'erreur pourrait jouer. Il suffit, en effet que le taux de Nacl soit tombé (1) à la suite d'un régime, au dessous de 8 0/00. Mais même dans ce cas l'erreur ne serait pas très considérable.

Ces faits, cet ensemble de circonstances capables de fausser le résultats de la réaction de Hay, ne sont point pour augmenter le crédit de celle-ci.

Pourtant les cliniciens, qui peut-être ne sont pas aussi difficiles que les chimistes, ne cessent d'accorder à cette réaction une confiance sinon réelle, du

(1) Il est rare de voir des urines dont la concentration en Nacl soit supérieure à 15 0/00.

moins... contrainte. Avouons qu'ils ne sont pas sans avoir raison ; car, par quel réactif aussi simple et aussi commode pourraient-ils remplacer cette fleur de soufre dont ils ont, depuis déjà longtemps l'habitude !

On continuera donc à se servir de la R. DE HAY tant qu'on n'aura, entre les mains, un procédé d'analyse plus sûr et tout aussi rapide. Mais il ne faudrait pas que cette « routine » endorme notre méfiance, notre esprit de contrôle et nous fasse oublier qu'il y a de nombreuses causes d'erreur dont il faut savoir tenir compte.

Si, malgré tous ses défauts, la R. de HAY a donné dans la main de certains auteurs des résultats intéressants, c'est parce que ceux-ci, très avertis, ont éliminé toutes les causes d'erreur dont ils pouvaient soupçonner la présence, et *fort probablement aussi*, parce qu'il est des réactions qui peuvent être suffisamment cliniques, sans jouir pour cela d'aucune spécificité chimique. Expliquons-nous. Quand, par exemple, on voit que la toxicité d'une urine a augmenté, on dit que le foie a manqué à son rôle antitoxique, ou que le rein a laissé passer des substances que, normalement, il arrête ou transforme. Mais jamais de la constatation simple de cette toxicité, on ne va jusqu'à conclure la nature de la substance toxique.

Il a été remarqué qu'il y avait un rapport inverse entre la tension superficielle et la toxicité urinaire. Est-ce à dire que cette toxicité est toujours due à la présence de sels biliaires ? et n'est-il pas possible de trouver dans les urines, simultanément ou (surtout) en l'absence complète d'acides biliaires, *d'autres substances également toxiques et dénivélantes à la fois ?*

La réaction de HAY, en dehors des affections hépatiques (1), et en dehors de tout ictère, a été trouvée positive dans une foule de maladies :

Dans les intoxications par le mercure, le saturnisme, l'alcoolisme (en l'absence de toute cirrhose constituée), après anesthésie au chloroforme ou à l'éther, et chez les femmes enceintes.

Dans les maladies aiguës : la pneumonie, la staphylococcie, l'appendicite (BRULÉ et GARBAN).

Dans le paludisme, la grippe (BENHAMOU et VOISIN), le typhus exanthématique (AMOR).

M. BABALIAN, dans sa thèse (Paris, 1921), a parlé de rétentions latentes et a fait remarquer la fréquence de la réaction de HAY dans les syphilis primaires et secondaires.

(1) Elle est presque toujours positive dans la lithiase biliaire, l'hépatite paludéenne, l'hépatomégalie des tuberculeux, le cancer du foie.

Plus récemment enfin, M. MÉGNIN (thèse 1923, Alger) a voulu faire de cette réaction un élément de pronostic de la tuberculose pulmonaire, après avoir fait une bonne étude de la réaction et montré la fréquence des HAY + dans les cas graves.

Nous sommes convaincus que dans la grande majorité des cas, les sels biliaires soient réellement présents dans les urines ; mais nous ayons de même la conviction qu'à côté de ces cas, il en est bien d'autres où la réaction n'est due qu'aux substances dénivellantes précédemment étudiées.

Les maladies dont nous venons de faire une énumération assurément incomplète sont toutes des affections qui peuvent, par leur gravité ou leur chronicité, toucher le foie.

Pourquoi cette atteinte de la cellule hépatique ne se traduirait-elle que par un passage de sels biliaires dans les urines ? (1) Pourquoi ne trouverait-on pas dans ces urines des produits de desassimilation incomplète des albuminoïdes et des graisses, pro-

(1) Les partisans de la théorie de l'origine extrahépatique des sels biliaires peuvent trouver, dans ce fait, un argument de plus. Il serait difficile, en effet, d'expliquer la présence de sels biliaires dans les urines, des affections où la bile s'écoule encore par des voies complètement libres, si on ne reconnaît pas au foie un rôle *excréteur d'acides préformés* dans le sang.

duits qui, pour la plupart, donnent, eux aussi, une réaction de HAY positive (peptones, polypeptides, acides aminés, acides gras, alcools divers, etc...) ? Et, d'ailleurs, le fait que l'azote résiduel qui, normalement est de 0,05-0,10, passe à 0,12-0,25 chez les hépatique (A. CHAUFFARD) ne justifie-t-il pas notre façon de voir ?

Pour nous, donc, la réaction de HAY *se montre comme une épreuve révélant, lorsqu'elle est positive, (1) une grande fatigue de la cellule hépatique, une déficience fonctionnelle du foie. Mais il n'est pas du tout prouvé que toutes les atteintes du parenchyme hépatique ne se traduisent que par une « selurie biliaire ».*

Nous savons que de rares auteurs contrôlent la réaction de HAY par celle, bien plus fidèle, de PERTENKOFER.

Mais cette dernière a-t-elle toujours elle-même été contrôlée par la spectroscopie ? N'est-il pas des substances qui donnent une coloration rouge avec le sucre et l'acide sulfurique, et qui abaissent en même temps la tension superficielle, ainsi que nous le verrons dans un prochain chapitre ? Bref.. !

Nous résumons nos idées et les conclusions que

(1) En dehors de toute rétention biliaire de cause mécanique.

nous tirons de cette étude de la tension superficielle et de la réaction de HAY dans les préceptes suivants :

1° La réaction de HAY est une réaction simple, rapide et sensible et qui peut rendre de grands services en clinique par les renseignements qu'elle donne sur l'état fonctionnel du foie.

2° La réaction de HAY n'est pas une réaction d'identification des acides biliaires, mais simplement une réaction d'*orientation*. Lorsqu'elle est positive, on doit vérifier la présence des sels biliaires dans les urines, par d'autres méthodes. On ne s'étonnera pas si, quelques fois, les réactions de contrôle restent négatives.

3° Enfin, pour éviter les erreurs, il n'est pas de précautions superflues :

a) On opérera sur des urines émises toujours à la même heure (de préférence sur celles du réveil ou de 18 heures).

b) On n'effectuera la réaction qu'un quart d'heure après leur émission (MÉGNIN).

c) La réaction doit être effectuée dans un verre à pied, large, propre, rincé à l'eau (et non à l'alcool).

d) Les urines doivent être toujours filtrées.

e) La fleur de soufre sera sèche. On en projette délicatement une pincée à la surface de l'urine en évitant d'en mettre sur les parois du verre. On peut employer la fleur de soufre, le soufre précipité ou le soufre lavé à l'eau. On pourrait aussi se servir de l'acide camphorique porphyrisé (procédé LIAUTARD). Nous préférons n'utiliser que la fleur de soufre ($D = 1.600-1.800$).

Pour que la réaction soit considérée comme positive, il faut : 1° qu'au bout de 5 minutes il y ait un dépôt de soufre au fond du vase (A. CHAUFFARD). 2° Qu'en 10 minutes une pellicule de soufre se forme à la surface du liquide, et 3° qu'enfin on puisse, par une très légère agitation précipiter une nouvelle quantité de fleur de soufre.

g) On doit, avant tout, s'être informé si le malade n'a pas pris des médicaments pouvant abaisser la tension superficielle des urines (Balsamiques, alcaloïdes, etc...) et assuré que les urines ne contiennent pas de peptones (Réaction de BIURET), ni du sang (réaction de MAYER).

REACTIONS CHIMIQUES ,

LA REACTION DE PETTENKOFER

Une réaction type, celle de PETTENKOFER, a servi de base à toute une série d'épreuves. Il en est dans lesquelles les auteurs ont cherché à concentrer, à séparer les sels biliaires avant d'effectuer sur eux la réaction de PETTENKOFER. Il en est d'autres où c'est la technique même de celle-ci, qui a été modifiée. Enfin, dans quelques cas, on a employé de nouveaux réactifs ; mais, là encore, c'est toujours les mêmes fonctions qui ont été manœuvrés, et c'est à la même architecture chimique qu'aboutit la molécule cholalique.

Ces réactions modifiées sont nombreuses. Nous les citerons rapidement en résumant la variation qui les caractérise.

On pourra essayer la réaction de PETTENKOFER sur les urines filtrées, ou sur les sels extraits des humeurs ou des tissus par les méthodes que nous avons déjà décrits.. Nous n'y reviendrons donc pas. Nous ne parlerons pas non plus des procédés de HOPPE-SEYLER et

de DÉNICES. Ils ont été donnés dans le chapitre de la Polarimétrie et de la spectroscopie.

Réaction de Pettenkofer. — A quelques milligrammes d'acides biliaires (X gouttes de bile par ex.) on ajoute X gouttes d'eau, 1 cc. d'acide sulfurique dilué (25 gr. $\text{SO}^4 \text{H}^2$ (1,84) — 75 gr. H^2O) et 1 goutte d'une solution de sucre à 1 0/0. En portant le mélange au B.-M. à 70° on obtient une coloration bleu-rouge (blau-rot)-pourpre. Quand toute la masse s'est colorée, on l'étend de 5 cc. d'HCl (HCl fumant (1,19) 1 vol. + H^2O — 1 vol), et d'une quantité suffisante d'eau. On peut constater alors, au spectroscope, deux bandes d'absorption dont l'une est située à gauche de la raie E, l'autre au niveau de F.

La réaction de PETTENKOFFER est une très bonne réaction.

Malheureusement, elle n'est pas plus spécifique que celle de HAY. Mais elle présente sur cette dernière la supériorité incontestable de permettre un contrôle rigoureux des résultats grâce à la spectroscopie.

Sa sensibilité varie de 4 p. 1000 à 1 p. 10.000.

Elle donne une réponse positive non seulement avec les sels biliaires mais encore avec les protéines (sauf la gélatine), le tryptophane, la cholestérine, etc. Mais le spectre de chacune de ces substances leur est spécifique.

Souvent on peut être gêné par la présence de pigments biliaires, qui, sous l'action de l'acide $\text{SO}^4 \text{H}^2$ se précipitent ou donnent une coloration verte, foncée,

masquant la réaction des sels biliaires. En cette éventualité on essayera d'atténuer l'action des pigments en diluant plus ou moins les urines ; ou, le cas échéant, on les éliminera complètement, par le noir animal.

Mais il faut aussi se rappeler que le noir animal, comme toute précipitation de substances colloïdales au sein d'une urine, entraîne une partie des sels biliaires que celle-ci peut contenir. Il ne faut donc pas abuser du noir, surtout, si on a des dosages à faire.

Dans la technique de ces réactions il est un point assez délicat : c'est la température à laquelle elles doivent être effectuées. Les ouvrages classiques conseillent de « refroidir », de « chauffer », de « ne pas refroidir », etc., indications qui paraissent contradictoires bien que dans l'esprit de leurs auteurs règne l'accord le plus net. C'est leur « façon de s'exprimer » qui, seule prête à confusion. En fait, toutes ces réactions doivent se passer à une température comprise entre 60 et 70°.

Comme de l'action de l'acide sulfurique sur l'eau, il résulte un dégagement de chaleur pouvant porter l'essai à une température supérieure à 70° (ce qui « grillerait » la réaction), il est prudent de refroidir le mélange, pour le porter ensuite au B.-M. réglé à 60-70°. C'est là, pensons-nous, le mode opératoire le plus correct.

Il est encore d'autres précautions dont il faut savoir se munir :

Le sucre ne doit jamais être en excès. L'acide

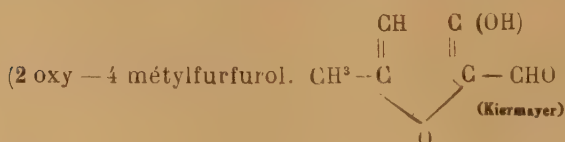
$\text{SO}^4 \text{H}^2$ le carbonisant, il se produit des composés ulmiques dont la coloration brune éclipserait celle de la réaction.

Dans les Pettenkofer modifiés, où le sucre est remplacé par une solution de furfurol, il faut de même éviter de mettre un excès de ce réactif : la coloration qu'on obtient serait bleue au lieu d'être pourpre (G. GUÉRIN).

Enfin, il faut que le furfurol soit récemment préparé (1).

MM. J. VILLE ET DERRIEN ont expliqué le mécanisme chimique de la réaction de PETTENKOFER :

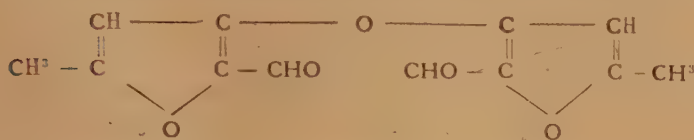
Le sucre donne, par hydrolyse, du fructose qui, sous l'action des acides, s'altère et se transforme en acide lévulique en passant par une suite d'étapes intermédiaires. Une de ces étapes a été saisie et isolée par DULL; c'est celle de l'oxyméthylfurfurol :



(1) On obtient facilement ce produit en distillant du son ou de la gomme avec de l'acide chlorhydrique ou de l'acide sulfurique étendus (distiller : gomme arabique 5 gr. ou son 10 gr. + 15 cc. HCl + 50 cc. H_2O + 1 goutte d'huile pour empêcher la formation de mousse).

C'est un liquide d'odeur spéciale, donnant avec une goutte d'aniline et quelques gouttes d'acide acétique une coloration rouge vif caractéristique.

Corps qui, en perdant de l'eau, donne l'oxyde :



C'est cet oxyde qui, se condensant avec l'acide cholalique donne la réaction de PETTENKOFEK.

(C'est un composé stable, incolore, fusible à 112°, cristallisable).

Procédé de Frerichs. — Evaporer les urines à siccité, ajouter de l'alcool, puis décolorer par le noir animal ; reprendre par l'alcool et évaporer à plusieurs reprises ; dissoudre enfin le résidu dans l'eau et essayer la réaction de Pettenkofer.

On opère en somme de la même façon qui pour la préparation de la bile cristallisée de Plättner. Le procédé est bon mais peu sensible.

Procédé de Neukomm. — Evaporer à sec une grande quantité d'urine, dissoudre le résidu dans l'alcool, filtrer, évaporer, reprendre par l'alcool qu'on évapore de nouveau pour dissoudre le résidu dans l'eau. La solution ainsi obtenue est traitée par le sous-acétate de plomb. Le précipité est repris par l'alcool absolu, on évapore à sec et reprend le résidu par l'eau. La solution placée dans une capsule est évaporée au B.-M., on ajoute alors 4 vol. d'acide $\text{SO}^4 \text{H}^2$ et quel-

ques gouttes d'une solution de sucre à 25 0/0 (= col. rouge).

Ce procédé permet de déceler la présence de 1 milligr. de sels biliaires. La précipitation ne porte que sur les taurocholates, donc la méthode est peu exacte malgré sa sensibilité. Nous préférons séparer le précipité par centrifugation et effectuer la réaction au furfurol.

Procédé de Huppert. — C'est une modification de la réaction précédante. Les résultats sont bien meilleurs. La réaction est environ deux fois plus longue.

On débarrasse l'urine des matières grasses et on la précipite par l'eau de Baryte. On filtre, on reprend par le sous-acétate de Pb. et on continue comme pour le procédé de Neukomm.

Procédé de Meillère. — A 200 cm³ d'urine (non filtrée) ajouter 2 cm³ d'acide acétique cristallisable et 14 gr. de sulfate d'ammoniaque. Dissoudre au B.-M. et abandonner pendant 24 heures. Filtrer soigneusement (ou mieux centrifuger). Le filtrat est lavé avec une solution saturée de sulfate d'ammoniaque, évaporé à sec et épuisé à l'alcool à 95° bouillant.

La solution alcoolique est à son tour évaporée sur 2 grammes (1 gr. suffit) de charbon animal. Le résidu est épuisé par de l'alcool (50-60°) froid. C'est sur le résidu laissé par l'évaporation de cette dernière solution qu'on recherche la réaction de Pettenkofer.

Pour cela, on ajoute sur ce résidu 2 cc. de SO^4H^2

contenant $1/5$ de H^2O . Le tout est chauffé à 60° dans une capsule, et on laisse tomber goutte à goutte une solution au $1/10$ de furfurol, jusqu'à apparition d'une coloration rouge pourpre (donnant au spectroscopie une très large bande d'absorption dans le vert). On ajoute alors à l'essai, peu à peu le $1/3$ ou le $1/4$ de son volume d'acétone. On dilue convenablement le tout à l'alcool à 95° , et le laisse une minute au B.M. à 60° . La teinte rouge du mélange vire au lilas, puis au violet bleu. Au spectroscopie on observe une atténuation de la bande dans le vert et l'apparition : 1° d'une bande étroite mais très nette dans l'orangé sur la raie D et un peu à sa gauche et 2° une bande petite et fugace à la limite du jaune et du vert.

C'est un procédé très exact et très précis, mais il est fort long (dure env. 2 jours). Il convient bien pour les travaux de laboratoires peu pressés demandant quelque précision.

Procédé de Strassburg. — On dissout une petite quantité de sucre dans l'urine à examiner et on y plonge un papier filtré. Une goutte de SO^4H^2 concentré déposée sur ce papier donne une tache violette.

Cette coloration n'est jamais bien nette, en outre, elle peut être souvent remplacée par une tache brune, noire et quelquefois même par un... trou. (Le papier est carbonisé par l'acide).

Procédé de Forster et Hooper. — Eliminer les corps gras et précipiter les albuminoïdes en agitant la bile avec son volume d'alcool à 95° ; filtrer. Décolorer

au noir, évaporer et dissoudre le résidu dans l'alcool. Pour chaque cm³ d'alcool, ajouter 1 goutte de furfural et un cm³ de SO⁴H² concentré.

Cette réaction serait, d'après les auteurs, sensible au 1/20 ou 1/30 de milligramme d'acide cholalique. Il nous a été impossible de retrouver cette sensibilité. Néanmoins ce procédé est aussi bon que celui de Huppert, tout en étant bien plus rapide.

Réaction de Kulz. — Evaporer quelques gouttes d'urine au B.M. en présence de sucre, ajouter ensuite une goutte de SO⁴H² (col. pourpre).

Réaction de Neubauer. — Evaporer à sec quelques gouttes d'urine au B.M. Additionner d'une goutte de solution de sucre de canne à 20/0 et une goutte de SO⁴H² concentré. On obtient une coloration violette.

Réaction de Bischoff. — Chauffer 1 cc. d'urine avec du sucre de canne et de l'acide SO⁴H² très diluée (col. rouge).

Réaction de Triboulet (pour la recherche des sels biliaires dans les selles). — On fait une petite tache de matières fécales sur une lame. On y laisse tomber 2 gouttes d'une solution à 20 % de secharrose et 1 à 3 gouttes de SO⁴ H². On obtient une coloration roux plus ou moins clair pour les biles normales et une coloration jaunâtre ou pas de coloration du tout avec des biles anormales.

Il y aurait ainsi, d'après l'auteur, une différentia-

tion très nette entre la bile normale et les biles pathologiques à tous les degrés.

Réaction de Francis. — Dissoudre 2 gr. de glucose (séché au B.-M.) dans 15 gr. de SO^4H^2 concentrés. A 4 cm³ de ce réactif superposer 4 cm³ d'urines. Il se forme un anneau pourpre.

Réaction de Mylius. — On dissout 0,02 gr. d'acide cholalique dans 0 gr. 5 d'alcool, on ajoute à la solution 1 cc. de solution décinormale d'iode, et on étend le mélange avec de l'eau. On obtient une coloration brune suivie d'une précipitation d'aiguilles microscopiques qui sont d'un jaune métallique à la lumière réfléchie et bleues à la lumière transmise. C'est une réaction peu sensible et qui ne marche qu'avec l'acide cholalique, encore faut-il que cet acide soit isolé.

Réaction de Mylius (2). — On évapore l'urine et la reprend par l'alcool. A la solution alcoolique ainsi obtenue, on ajoute 1 cc. de SO^4H^2 contenant 1 goutte de furfurol. Il se produit une belle coloration violette.

Réaction d'Udransky. — En superposant 2 cc. de liquide à examiner, additionné d'une goutte de furfurol (sol. à 1 0/0), à une couche de SO^4H^2 on obtient un anneau violet-rouge.

Réaction de Dreschel. — Concentrer les urines et les chauffer au B.-M. après les avoir additionné d'acide phosphorique sirupeux et de sucre de canne.

Réaction de Waele (H. de). — Porter à l'ébullition un mélange âa d'urines et d'acide phosphorique con-

centré. Une coloration améthyste apparaît bientôt, qui vire au rouge vineux puis au brun acajou.

R. de Meillère. — Les urines chauffées à 60° avec du réactif de Ronceray (solution sulfurique de vaniline) donnent une coloration rouge orangé très intense passant au rouge sang (spectre : 1 bande dans le vert).

Réaction d'Inouye et Ito. — Les acides biliaires donnent, avec la vaniline et l'acide SO^4H^2 une coloration rouge virant au violet qui diluée avec de l'acide acétique glacial, donne une bande d'absorption dans la raie B du spectre.

Cette réaction est analogue à la précédente (à une dilution dans l'acide acétique près). Elle est très sensible (Sensibilité : acide taurocholique 1 p. 11.000 : acide cholique, 1 p. 22.000). Les auteurs ont en outre proposé un procédé de dosage basé sur cette réaction effectuée sur une série de dilutions.

Réaction de Ville et Derrien. — La solution alcoolique provenant du traitement du produit dans lequel on recherche les acides biliaires est concentrée en une goutte au fond d'un verre de montre à pointil.

On y ajoute 1 ou 2 gouttes de solution alcoolique de vaniline (0,152 de vaniline dans 50 cc. alcool à 95°) ou d'aldéhyde anisique (0,136 gr. pour 50 cc. alcool à 95°) et une goutte d'acide sulfurique concentré.

On obtient avec la vaniline une coloration rouge groseille (bande d'absorption entre le jaune vert et le

vert autour de $\pi = 510$). L'aldéhyde anisique donne une belle coloration rose éosine sans fluorescence (avec une bande d'absorption nette dans le vert autour de $\pi = 520$). (Le tryptophane, les albumines, la cholestérine donneraient des bandes situées respectivement autour de $\pi = 486, 546$ et 599).

Réaction de Jolles. — A 2 à 3 cc. d'une solution à 1 0 0 d'acide biliaire, on ajoute 1 ou 2 gouttes de rhamnose (méthylpentose) en solution dans l'eau (à 5 pour 100) et l'on fait bouillir avec 2-3 cc. d'HCl concentré. Il se produit une belle coloration rose, remplacée bientôt par une fluorescence verte (formation de méthylfurfurol-aldéhyde).

C'est une belle réaction décelant la présence de 0, mg — 1 d'acide cholalique, et ne se produisant pas avec l'urée ni avec les albuminoïdes, les hydrates de carbone, les corps de la série aliphatique, ceux de la série cyclique ni avec le glycocolle, la taurine ou la cholestérine.

Réaction de Oliver. — Les acides biliaires précipitent par un réactif contenant 30 gr. de peptone, 10 grammes d'acide salicylique et 1 cc. d'acide acétique pour 100 gr. d'eau.

Réaction peu commode; inutilisable pour la recherche des sels biliaires dans les urines.

Enfin, nous-mêmes, nous avons porté une légère modification à la réaction de Pettenkofer en remplaçant le sucre de canne par une solution de glycogène.

A 2 cc. d'une solution très diluée de sels biliaires, nous ajoutons 2 gouttes d'une solution à 2,5 0/0 de glycocène et 1 cc. d'HCl ou de SO^+H^2 . En superposant les couches on obtient un anneau vert pomme clair qui se forme au bout de quelques minutes et disparaît rapidement. On agite alors le tube et on le porte au B.-M. à 90°. Une coloration rouge se dessine et va en s'accroissant. On retire de temps à autre le tube pour le placer devant la fente d'un spectroscope.

Cette méthode, sans être plus sensible que les autres présente un certain avantage : La coloration ne se faisant que progressivement, on peut saisir l'instant où la concentration permet une vision nette du spectre. On évite ainsi les tâtonnements parfois assez ennuyeux des dilutions que nécessitent les examens spectroscopiques.

En un dernier chapitre, rapportons enfin un test qu'on peut utiliser pour déterminer si, dans un ictère, les voies biliaires sont libres ou si le cours normal de la bile est entravé par un obstacle.

On sait qu'à la suite d'un repas riche en graisses, le sang se montre, à l'ultramicroscope, bourré de petites granulations graisseuses, brillantes, appelées *hémococonies*. Ce phénomène est dû à l'absorption, au niveau du tube digestif, des graisses émulsionnées par les sels biliaires.

Si donc, par un mécanisme quelconque l'écoulement de la bile est arrêté, les graisses, non émulsionnées faute de sels biliaires, ne seront plus absorbées par les parois intestinales. Dans ce cas les *hémococonies* seront absentes du sang.

C'est ce qui a été observé dès 1910 par MM. A. LEMIERRE et M. BRULÉ. Ces auteurs ont aussi montré que ce fait ne dépend que des sels biliaires et ne s'observe que lorsqu'ils sont absents dans le tube digestif.

En effet, dans certains cas d'ictères infectieux pneumococciques, on trouve dans la vésicule une bile absolument décolorée mais contenant encore ses sels.

Dans ces cas, et dans beaucoup d'autres, où l'on voit des matières décolorées mais présentant une *Réaction de Pettenkofer positive*, on peut facilement mettre en évidence, après un repas d'épreuve, la présence d'*hémococonies* dans le sang.

Chez d'autres malades, la recherche des hémococonies sera vaine, malgré une coloration normale des fecès. Dans ces cas la rétention des sels biliaires sera souvent démontrable (PETTENKOFER. + dans le sang et les urines, négatif dans les matières, prurit, etc.).

Les hémococonies peuvent quelquefois faire défaut dans le sang en dehors de toute obstruction des voies biliaires, consécutivement par exemple à certaines lésions pancréatiques. Aussi faut-il conclure sagement avec les auteurs que : « Si on ne peut pas dire ictère par rétention toutes les fois qu'on ne trouve pas d'hémococonies dans le sang, du moins peut-on écarter le diagnostic d'ictère par obstruction *totale* du cholédoque quand les hémococonies sont présentes ».

Si nous avons parlé de ces faits bien qu'ils n'entrent pas dans le cadre immédiat de notre thèse, c'est parce que nous avons jugé qu'il est intéressant de pouvoir vérifier par les méthodes biologiques un diagnostic que l'investigation chimique a déjà permis de poser.

CONCLUSIONS

Nous avons, quoique de façon très imparfaite, résumé dans ce travail nos connaissances sur la chimie et la physiologie des sels biliaires. Nous nous sommes attachés surtout à présenter tous les procédés et toutes les réactions qui ont été proposés pour séparer, isoler ou caractériser ces sels. Nous avons enfin longuement discuté la valeur des réactions de Hay et de Pettenkofer, les seules, qui, malgré leurs défauts, soient réellement cliniques ; les procédés plus précis étant trop longs et trop compliqués pour pouvoir être utilisés au lit du malade.

Rappelons les principales conclusions auxquelles nous avons abouti :

La réaction de Hay, pratiquée sur une urine en prenant toutes les précautions que nous avons signalé dans un de nos chapitres, indique, lorsqu'elle est positive, une souffrance de la cellule hépatique. Mais elle ne garanti nullement la présence de sels biliaires dans cette urine.

La réaction de Pettenkofer, à laquelle nous préférons la modification Mylius-Udransky, bien que sujette elle aussi à beaucoup de causes d'erreur (dont nous avons indiqué quelques-unes et donné le moyen de les éviter), est supérieure à celle de Hay, malgré même qu'elle n'en aurait pas la sensibilité. Toutefois, on n'affirmera la présence certaine de sels biliaires dans un liquide que lorsque la réaction aura été contrôlée au spectroscope. Ce moyen *seul* peut garantir l'exactitude des résultats.

Il serait souhaitable que le spectroscope, cet instrument de précision (dont il existe un grand nombre de petits modèles très pratiques et peu coûteux) sorte des laboratoires pour faire son apparition en clinique où il rendrait, dans plus d'un cas, de très grands et très réels services.

Vu et bon à imprimer :

ROGER

le Recteur de l'Académie de Paris :

P. APPEL

Vu le Doyen :

H. ROGER

BIBLIOGRAPHIE

- ABRAMI (P) et GAUTIER. — Ictère au cours d'une fièvre typhoïde. Syndrome de l'ictère catarrhal. Dissociation de la secretion biliaire. Bull. Soc. Méd. des Hôp. 13 déc. 1912.
- AMAN. — La dépression de la constante capillaire des Urines pathologiques. Bull. de la Soc. Vaudoise des Sc. Nat. 1902.
- AMOR. — Du pronostic et du traitement du Typhus Exanthématique. Thèse Alger 1920.
- AUCHE (A.). — Recherches spectroscopiques de la bile CR. Acad. des Sc., Paris, 1908. CXLVI.
- BABALIAN (L.). — Des rétentions biliaires latentes dans la syphilis. Thèse, Paris, 1921.
- BEDDARD (A.-P.) AND PEMBREY (M.-S.). — Hay's réaction for bile salts. Brit. Méd. Journ., 22 mars 1902.

- BENHAMOU et VOISIN. — Paris Médical, 31 mai 1919.
- VON BERGMAN (G.). — Beit. Chem. Physiol. und Path. 1904 IV, 192.
- BILLARD (G.) et DIEULAFE (L.). — Tension superficielle et viscosité de la bile salée. CR. Soc. Biol. Paris, 1902. IV 275,325,405.
- BLEIBTREU. — Pflugers Archiv. XCIX., 187.
- BONNANI (A.). — Ulteriore contributo alla conoscenza della bile umana. B. d. r. Acad. di Roma, 1907, XXXIII.
- id. Arch. Ital. de Biol. Turin. 1908, XLIX.
- BRAULT et GARBAN (H.). — Dissociation de la secretion biliaire au cours de deux cas d'ict. catarrhal. Ret. isolée des Pig. Bull. Soc. Méd. des Hôp. 7 février 1913.
- BRULE (M.) et GARBAN (H.). — Les petites Urobilurines. Presse Médicale, 6 juillet 1921.
- id. La rétention des sels biliaires dans les affections du foie sans ictère. Bull. Soc. Méd. des Hôp. 6 mars 1914.
- id. Revue de chirurgie, n° 6, janv. 1914.
- id. Gaz. des Hôp. n°s 25-28, déc. 1914.
- id. La Rech. des sels B. par la R. de Meillère. CR. Soc. Biol., 1923, LXXXIX.
- BRUNNACCI (B.). — Oscillations physiologiques journalières de la pression osmotique de la bile,

comparée avec les oscillations physiologiques journ. de la température du corps. Arch. Ital. de Biol. Pise 1917-18, LXVIII, 177.

BROWN (J. G.). — Note on the action of bile salts on the animal Economy. Proc. Roy Soc. Edimburg, 1872, VIII, 525.

BULDE et LAVRAND. — CR. Soc. Biol. 1888.

CARRACIDO (J.-R.). — Origen probable de los acidos biliares. Rev. Ibero-Am. de cien. Méd. Madrid, 1901, V, 38.

id. Cong. Intern. de Méd. CR Madrid, Sect. Physiol. 42.

CASTAIGNE. — Introduction à l'étude des maladies du foie, pancréas et voies urinaires. Traité de Patho-Méd. et de Thérap. appliq., XII, Paris, 1920.

CHABROL et BENARD. — Les Ictères. — Collection : « Les Actualités Médicales ».

CHAUFFARD (A.). — Les dissociations des états cholémiques. Presse Médicale, 29 janvier 1913.

CHAUFFARD (A.). et GOURAUD (F.-X.). — Val. Clin. de la R. de Haycraft pour la rech. des principes bil. dans les urines. J. Physio. et Pathol. Gén., 1901, 461.

COHN. — Test and Réagent. — New York, janvier 1903.

CROFTAN (A. C.). — Phil. Méd. J., 1902, IX, 75, 142.

id. Americ. Journ. Méd. sciences, 1902, CXXIII, 150.

DARIO BALDI. — Lo spérimentale, 1884, août.

DONNAN (W.) and DONNAN (F.). — The surface tension of Urine in Healths and diseases. Brit. Méd. Journ., 1905.

id. Tr. Pathol. Society, London, 1903.

DOUMER (E.). — Ann. Méd., 1921, X, 1 p. 26.

DUCLAUX. — Ann. de Chim. et Physiq., 1870, p. 76.

id. id. 1878, p. 778.

VON FENYVESSY (B.). — Ueber die Hematol. Wirkung der Gallensauren, Biochem. Zeitschrift, Berlin, 1907, V, 114.

FORSTER (M. G.) and HOOPER (C. W.). — The metabolism of bile acids. A quantitativ. method. for analysis of bile acids in dog's bile. J. Biol. Chim. Balt. 1919, XXXVIII, 355.

FRENKEL (H.). — La réact. de Hay. pour la recherche des ac. biliaires. CR. Soc. Biol., Paris, 1902, LL., IV.

id. Soc. de Méd. de Gand., déc. 1900.

- FRENKEL (H.) et CLUZET (J.). — La Réaction de Haycraft pour la recherche des acides biliaires. CR. Soc. Biol., Paris, 22 déc. 1900.
J. Physiol. et Patho. Gén. 15 janv. 1901.
id. Recherche sur la tension superfic. des urines. CR. Soc. Biol., Paris, 1 mars 1901.
- GARES. . . Recherche des sels et acides biliaires dans les urines. Thèse, Toulouse, 1902.
- GARNIER (M.). — Le foie dans les maladies infectieuses. In. Mal. du foie et leur traitement. Paris, 1910.
- GAUTIER (A.). — Cours de chimie biologique, Paris 1892.
- GILBERT, CHABROL et BÉNARD. — Rech. Stalagmométrique sur la cholurie saline. CR. Soc. Biol., 15 janvier 1921.
id. Cholurie saline dans les ictères. CR. Soc. Biol., 19 déc. 1920.
- GLEYS (E.) et LAMBLING (E.) — Sur les conditions dans lesquelles se manifestent les propriétés antiseptiques de la bile. Revue Biolog. du Nord de la France. I. 1888.
- GÖPPELSRÖDER. — Kapilar analyse. — Bâle, 1901.
- GRADENWITZ. — Methoden zur Bestimmung der Steighöhe. in Diss. Breslau, 1902.

- GRUNBAUM, OTTO. — Bile salts in urine. J. of Physiology, 1904.
id. J. Pharm. et de Chim. T. I.
- GRIMBERT. — Recherche des éléments de la bile. Paris Médical, 16 Juin, 1914.
- GUÉRIN (G.). — Sur la R. de Pettenkfer. J. de Pharmacie et de Chimie, XXVIII, Paris 1908.
- HAMMARSTEN-OLOF. — Ueber die farbreactionen der cholsaure mit verdünnter Salzsäure. Zeitschrift für Physiol. Chem. 1919, LXI 495.
- HOPPE-SEYLER (F.). — Handbuch Physiologische und Pathologische chemischen analyse. 7^e édition.
- HUFNER. — Journ. prakt. chem. X, 207.
- INOUE (K.) AND ITO (H.). — Zeitschrift Physiol. chem. 1908 LVII 313.
- JOLLES (A.). — Ber. chem. Ges. 1908. XLI, 2766.
- LAMBLING (E.). — Précis de Biochimie, 3^e Edit. Paris 1921.
- LAUSCHINOFF. — Ueber cholansäure und biliansäure. Ber. chem. Ges. XIX, 480.
— Ueber die Gallensäure. Ber. chem. Ges. XX. 1043.
- LEMIERRE et BRUTÉ. — La lipémie alimentaire dans quelques ictères. Dissociation de la sécré-

tion bil. au cours de cert. affections. Bull. Soc. Méd. des Hôpit., 23 décembre 1910.

— Mouvement Médical, mars 1913.

LYON-CAEN (L.). — Rech. Expérim. sur la Tens. Superf. des urines. J. Pathol. et Physiol. gén., juillet 1910 (1^{er} mémoire).

— Septembre 1910 (2^e mémoire).

— La T. S. Son application à la différenciation des choluries et à l'étude du foie dans les ictères. Thèse Paris 1910.

MACHT (D.-I.) ET HYNDMAN (O.-R.). — Relation between the chemical structure of bile acids and their Phyto-pharmacological and Zoopharmacological reactions. J. Pharmacology and Exp. Thérap. Balt. 1923-24, XXII, 483.

MARIO MAYER. — Arch. di Fisiologia 1907, 492.

MÉGNIN. — La R. de Hay dans la tuberculose pulmonaire. Thèse Alger 1923.

MEILLÈRE. — Rech. et caractérisation des ac. bil. dans les urines. C.R. Soc. Biol. avril 1913, n° 15.

— Soc. Pharmacie, février 1913.

— C.R. Soc. Biol., octobre 1901.

MIHAÏLOFF. — Bull. Soc. Chim., XLIII, 123.

MOREL (A.). — Précis de Technique chimique, Paris 1909.

- MULLER. — Schweiz. Médiz. Wochenschr., n° 36, 8 septembre 1921.
- MYLUS. — Ueber die Cholsaure. Ber. chem. Ges. 1868, XX.
- Zur Kenntniss der Pettenkofer'sche Gallensaurenréaction.
- NEUBERG. — Ueber die Reakt. der gallensaure mit Rhamnose. Biochem. Zeitschr., Berl. 1908, IV, 348.
- NEUKOMEN (J.). — Ann. chem. 1860, CXVI, 38.
- PIETTRE (M.). — Trait. chim. de la bile. Séparation des ac. Bil. C. R. Acad. des Sc. Paris 1900, CXLVIII.
- PREGER (F.). — Ueber die Gemeinsame Konstitution der drei specifischen gallensauren. Zeitschrift für Physiol. Chem. Strassbg. LXV.
- ROGER (H.). — Physiologie normale et pathologique du foie. Paris.
- ROSENTHAL (F.) ET VON FALKENHAUSEN. — Weitere Beiträge zur Physiol. und Path. der Gallensauren. III. Klin. Wochenschr. Berl. 1923, II, 1487.
- Arch. für Exp. Pathol. und Pharm. Leipzig 1923, CVIII, 321.
- Verhandl. d. deutsch. Ges. f. innere Méd. München 1923, XXXV.

SCHIFF (M.). — Sur la R. des acides bil. et leur diff. chez le bœuf et chez le cobaye. Arch. de Physiol. norm. et pathol. Paris 1892, IV, 594.

— Ges. Beit zür Physiol. 8^e Lausane 1898. 298.

SENTIS. — Thèse fac. Sciences Paris 1896.

SOCOLOFF (N.). — Arch. Ges. Physiol. 1875. XI, 166.

SPIRO (P.). — Arch. Physiol. 1890. Suppl. 50.

STADELMAN. — Der Ikterus, Stuttgart 1891.

— Zeitschft Exp. Pathol. u Pharmak. XXIV, 270.

— Zeitschft, f. Biolog., 1897, XXXV, 1.

STRANSKY (E.). — Ueber die Wirkung von Salzen auf die Gallensekretion. Biochem. Zeischft. Berlin 1923. CXLIII, 438.

TAPPEINER. — Bull. Soc. Chim. XXXVIII, 131.

TRAUBE. — Ber. Chem. Ger. XXIV, 1891.

TRIBOULET (H.). — La R. de Pettenkoffer, son emploi empirique en coprologie clinique. C. R. Soc. Biol., 16 déc. 1910. LXIX.

TROISIER (J.). — Tension superf. et dégradation des albuminoïdes. Bull. Soc. Méd. des Hôp., 28 octobre 1921.

- UDRANSKY. — Zeitschft. Physiol. Chem. XII, 370.
- VAHLEN. — Zeitschft. Physiol chem. XXI, 253.
- VILLE (J.). — Sur la R. de Pettenkofer pour la rech.
des ac. bil. Bull. Soc. Chim. 1907, I, 965.
- VILLE (J.) ET DERRIEN (E.). — R. col. des ac. bil.
avec la vaniline et avec l'aldéhyde anisique.
C. R. Soc. Biol. 1908. LXIV, 905.
- R. col. des ac. bil. Véritable mécanisme de
la Réact. de Pettenkofer. C. R. Soc. Biol.
1909. LXVI, 175.
- WHATHMOUGH. — Zeitschft für Physik. — Chem.
XXXIX.
- WIELAND (H.). — Untersuchung über die Gallensau-
ren. Zür Kentniss der cholepidonsaure. Zeits-
chft. f. Physiol. chem. 1924. CXXXV, 140,
144, 276.
- ZUNZ. — Rech. stalagmomtétriques sur les albumoses
et les peptones. Bull. Soc. Roy. des Ss. Méd.
et Nat. de Bruxelles, 1906, 137.
-

